

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1930-1931 N° 96

Travail de l'Institut Bactériologique de Lyon
et de la Clinique Médicale Infantile

Etude Bactériologique
de la
Flore Intestinale du Nourrisson

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 3 Décembre 1930

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jacques LUBINEAU

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Diplômé d'Hygiène et de Microbiologie

Né le 6 Janvier 1905 à BESANCON (Doubs)



LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU

42, Quai Gailleton, 42

1930

ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE
de la
FLORE INTESTINALE DU NOURRISSON



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1930-1931 N° 96

Travail de l'Institut Bactériologique de Lyon
et de la Clinique Médicale Infantile

Etude Bactériologique
de la
Flore Intestinale du Nourrisson

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 3 Décembre 1930

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Jacques LUBINEAU

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

Diplômé d'Hygiène et de Microbiologie

Né le 6 Janvier 1905 à BESANÇON (Doubs)



LYON

Imprimerie BOSC Frères & RIOU
42, Quai Gailleton, 42

1930



PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ
Doyen	M. J. LEPINE
Assesseur	M. ROLLET

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, CAZENEUVE, ROQUE, LANNOIS, HUGOUNENQ, ROCHET, BARRAL

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. PIC
Cliniques chirurgicales	PAVIOT
	TIXIER
	BERARD
	VORON
	ROLLET
	NICOLAS
	LEPINE (J.)
	MOURIQUAND
	VILLARD
	COLLET
	GAYET
	NOVE-JOSSERAND
	CLUZET
	FLORENCE
	MOREL
	BRETIN
	GUIART
	LATARJET
	POLICARD
	DOYON
	FROMENT
	CADE
	FAVRE
	PATEL
	ARLOING (F.)
	Etienne MARTIN
	COURMONT (P.)
	SAVY
	LEULIER
	PIERY

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Pathologie externe	MM. VALLAS
Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN

CHARGES DE COURS COMPLEMENTAIRES

Anatomie topographique	MM. THEVENOT (Léon)
Puériculture et hygiène de la première enfance	RHENTER
Chirurgie expérimentale	TAVERNIER
Applications du radium	NOGIER
Stomatologie	TELLIER

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	CHALIER (Joseph)	MARTIN (Joseph)	CHAMBON
ROCHAIX	NOEL	ROCHET (Ph.)	CIBERT
RHENTER	DUMAS	WERTHEIMER	EPARVIER
MAZEL	DUFOURT	GATE	GUILLEMINET
SANTY	DEVIC	BERNHEIM	MORENAS
CHALIER (André)	GABRIELLE	DECHAUME	ROCHE
	MANCEAU	POLLOSSON	REBATTU ch.

M. BAYLE, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. MOURIQUAND, président ; ROCHAIX, assesseur ;
DUFOURT et BERNHEIM, agrégés.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

LE COMMANDANT V. LUBINEAU

Chevalier de la Légion d'Honneur

Tué devant Verdun, le 18 mars 1916

A LA MÉMOIRE DE MA SŒUR

A MA MÈRE

A MES PARENTS

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MOURIQUAND

Chevalier de la Légion d'Honneur

Professeur de Clinique Médicale infantile

Médecin des Hôpitaux

Nous garderons toujours le meilleur souvenir de son enseignement et de l'accueil bienveillant que nous avons reçu dans son service.

Il nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre Jury de thèse. Nous le prions de croire à notre respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR P. COURMONT

Officier de la Légion d'honneur

Professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine

Directeur de l'Institut Bactériologique de Lyon

Médecin des Hôpitaux

Il nous a appris à connaître et à aimer l'hygiène et a bien voulu nous autoriser à travailler à l'Institut Bactériologique. Nous lui exprimons ici nos respectueux sentiments d'admiration et de reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. SEDALLIAN

Chef de Clinique Médicale infantile

Chef de service à l'Institut Bactériologique de Lyon

L'idée de ce travail lui appartient. Il nous a très aimablement accueilli dans son laboratoire et nous a prodigué ses conseils éclairés.

Nous le remercions très vivement de tout ce qu'il a fait pour nous, et nous l'assurons de notre profonde gratitude.

A MES MAITRES
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DES HOPITAUX

A MES MAITRES ET A MES CHEFS
DE L'ECOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE

ETUDE BACTÉRIOLOGIQUE
de la
FLORE INTESTINALE DU NOURRISSON

Introduction

La bactériologie normale de l'intestin du nourrisson est relativement peu connue. Au début du siècle, elle a fait l'objet de nombreux travaux, mais depuis la guerre, la question passe à l'arrière-plan. Cependant quelques auteurs étrangers en ont repris l'étude pendant ces dernières années ; en France, il n'a pas été publié de travaux d'ensemble depuis la thèse de Tissier qui est et restera toujours à la base de l'étude des microbes des selles.

Nous avons essayé, en consultant une riche documentation, de mettre de l'ordre dans les résultats très divers et même contradictoires des différents auteurs.

Nous avons aussi effectué une série de recherches originales dans le laboratoire et sous la direction du Docteur Sédallian, et si notre travail est principalement un mémoire documentaire, il comporte cependant une part d'études personnelles.

CHAPITRE PREMIER

Historique

Loewenhaeck, le premier, voit des infiniment petits dans les selles et les considère comme des parasites insignifiants. Après les découvertes de Pasteur, de nombreux chercheurs étudient, avec des fortunes diverses, la bactériologie de l'intestin ; seul, Bienstock, en 1883, parvint à décrire quatre espèces microbiennes nouvelles. La grande complexité de la flore intestinale de l'adulte amène les chercheurs à l'étude de celle de l'enfant, beaucoup plus simple comme l'avait montré Uffelmann qui en donne, en 1881, une description assez précise.

En 1885 paraît la monographie d'Escherich sur la bactériologie des selles du nourrisson. C'est le premier travail important sur la question et nous allons en résumer les résultats principaux. Escherich constate que le méconium, stérile à la naissance, se peuple de microbes vers la 4^e heure de la vie ; ces microbes sont très variés ; ce sont des cocci, des bacilles de

diverses tailles munis pour la plupart d'une spore. Il donne ensuite la description d'une selle de lait où il ne trouve que des bacilles paraissant tous identiques, comme dans une culture pure, et qui se colorent irrégulièrement. L'auteur fait remarquer que l'allaitement artificiel modifie notablement l'aspect bactériologique des selles. Comme méthode d'isolement, il a surtout utilisé les plaques de gélose et de gélatine ; il a essayé aussi des cultures en anaérobiose (dans un œuf, sur gélose recouverte d'une plaque de mica) mais sans résultats, ce qui l'amène à penser qu'il n'y a pas d'anaérobies dans l'intestin du nourrisson. Par ces moyens il a pu décrire quatorze espèces nouvelles, en particulier le coli bacille, le *B. lactis aerogenes*, le *micrococcus ovalis* qui semble bien être l'entérocoque. Il croit devoir appeler les deux premières espèces « obligaten Bakterien » à cause de leur constance à l'examen et en culture. Il fait aussi remarquer que la flore du méconium est protéolytique, alors que dans les selles de lait elle est saccharolytique. Cette flore n'aurait qu'un rôle secondaire dans la digestion et dans les infections gastro-intestinales.

Cet important travail a été suivi de quelques études d'Escherich sur le coli bacille. En colorant les selles par la méthode de Gram, Escherich a vu que la plupart des bacilles des selles normales étaient violets, et que ceux des selles pathologiques étaient rouges. Il en déduit qu'il doit y avoir un coli normal, gardant le Gram et s'obtenant difficilement en culture où il devient Gram négatif, et un coli pathogène constamment Gram négatif. A. Schmidt, en 1892, émit à ce propos

la théorie longtemps classique de la coloration par le Gram des coli vivant en présence de corps gras. Nous savons aujourd'hui que le coli, seul, se décolore ; les bacilles Gram positif observés par Escherich correspondent, sans aucun doute, au *B. bifidus* dont on trouvera l'étude plus loin.

Citons aussi les travaux de Schild (1894) sur le méconium, de Szego (1895), de Théodor (1897) ; ce dernier ne trouve pas de différence entre les flores des nourrissons au sein ou au biberon, atteints ou non de gastro-entérite.

En 1896, Eberlé montre que l'on ne peut obtenir en culture qu'une infime partie des germes vus au microscope, et il attribue ce fait au peu de vitalité des espèces intestinales.

En 1899, Thiercelin décrit l'entérocoque.

C'est à cette époque que H. Tissier, en voulant étudier les variations de coloration du coli bacille signalées par Escherich, commence ses travaux dont les résultats sont réunis dans sa thèse sur la flore intestinale du nourrisson à l'état normal et à l'état pathologique. Cet ouvrage fondamental apporte un grand nombre de faits nouveaux, exposés d'une façon claire et précise. Ses conclusions sont restées classiques et il est nécessaire d'en donner, dans cet historique, un aperçu général. Chez l'enfant au sein, la flore intestinale s'établit d'une façon régulière ; après une phase aseptique, qui dure une dizaine d'heures, l'infection se fait progressivement avant toute alimentation et se continue jusqu'au troisième jour après la naissance : c'est la phase d'infection croissante ; puis l'aspect microbien se simplifie

pendant la phase de transformation de la flore et vers le 4^e jour la flore normale est constituée et reste constante jusqu'au sevrage. Elle est formée presque exclusivement par le *B. bifidus*, anaérobie strict et par quelques rares *coli* bacilles et entérocoques. Cette flore se modifie par ingestion de calomel et surtout dans les infections intestinales ; on trouve en plus, dans ce cas, des formes microbiennes anormales. Chez l'enfant au biberon, la flore est bien différente ; la phase d'infection croissante et la phase de transformation sont plus lentes, plus tardives, et la flore normale est formée de nombreuses espèces : *B. acidophilus*, *B. exilis*, entérocoque, streptocoques, *coli*, *B. bifidus*, etc... Les modifications produites par le calomel sont plus profondes et plus lentes à disparaître que chez l'enfant au sein. Chez les enfants nourris à l'allaitement mixte, l'aspect de la flore est variable, et rappelle un peu celui de l'enfant au sein. Le rôle physiologique de cette flore n'est pas le même pour ces différentes variétés d'alimentation. Chez l'enfant au sein, la digestion étant complète, il n'y a pour ainsi dire pas de fermentations intestinales. Chez l'enfant au biberon les déchets fermentescibles sont abondants (lactose surtout) ce qui explique la présence d'espèces plus nombreuses. Pour terminer H. Tissier étudie le rôle pathologique de la flore intestinale ; il n'admet pas l'infection primitive endogène et insiste sur l'immunité de l'enfant au sein et sur le peu de résistance de l'enfant au biberon, qu'il explique par la composition chimique et surtout par la flore du contenu intestinal.

Telles sont les principales données de ce travail qui

marque une date dans l'histoire de la bactériologie de l'intestin de l'enfant. Indépendamment des principes originaux sur la constitution et le rôle des différentes flores, on y trouve décrit pour la première fois un certain nombre d'espèces nouvelles, en particulier le *B. bifidus*. C'est l'ouvrage le plus important qui ait été publié sur la question, aussi bien en France qu'à l'étranger.

En cette même année 1900, E. Moro décrit un nouveau bacille qu'il considère comme l'espèce prédominante des selles du nourrisson : c'est le *B. Acidophilus*, ainsi nommé à cause de son affinité apparente pour les milieux acides. Finkelstein, quelques mois plus tard, et indépendamment de Moro, trouve chez tous les nourrissons des bacilles qu'il nomme « Saureliebenden Bazillen », qui ne sont pas autre chose que le *B. acidophilus* de Moro.

L'année suivante, Cahn étudie les bacilles prenant le Gram des selles des nourrissons, et Rodella les bacilles dits acidophiles. Cahn admet la prédominance du *B. acidophilus* dans les selles, quel que soit le mode d'allaitement ; il n'a jamais pu isoler le *B. bifidus* en culture pure. Rodella décrit aussi une espèce acidophile qu'il croit constante dans tous les cas.

En 1902, Cipollina s'occupe spécialement des bacilles acidophiles des selles d'adultes, et Passini publie un travail sur les bactéries granuleuses de l'intestin. Rodella, rappelant qu'Escherich avait échoué dans la recherche des anaérobies des selles d'enfants, démontre que de tels germes s'y trouvent quelques heures après la naissance, que l'enfant soit au sein ou au

biberon ; ces anaérobies sont, pour la plupart, sporulés et produisent des gaz en culture. A ce moment, Rodella n'avait pas encore eu connaissance des travaux de Tissier, et il ne parle pas du *B. bifidus*, anaérobie strict.

Nous trouvons ensuite une série d'articles de Cahn, Ballner, Eijckmann, Weiss... sur les bactéries des selles, qui n'apportent aucuns faits nouveaux. En 1904, Jeannin étudie la flore de la bouche des nourrissons et n'y trouve que des espèces banales. Mereschowsky et ses collaborateurs font d'importantes recherches sur les bacilles acidophiles de l'intestin dans l'échelle animale ; ils classent ces bacilles en deux catégories : la première est assimilée par Mereschowsky au *B. bifidus*, la seconde au *B. acidophilus* de Moro ; mais la description du type I ne correspond pas du tout à celle du bacille de Tissier.

En 1905, E. Moro fait paraître un travail d'ensemble sur les bactéries de l'intestin du nourrisson. Il considère le *B. acidophilus* comme une espèce moins abondamment représentée que le *B. bifidus* chez l'enfant au sein, mais néanmoins constante. Après avoir étudié les principaux bacilles des selles, E. Moro s'occupe de la répartition des germes dans le tube digestif et de leur rôle physiologique et pathologique. La même année, H. Tissier publie un article sur la répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson et arrive à peu près aux mêmes résultats que Moro.

Jacobson, en 1908, confirme en partie les résultats de Tissier, en partie ceux de Moro sur la flore normale des selles ; il décrit, en outre, des espèces nouvelles,

en particulier le *B. intestinalis tuberculiformis* très voisin du *B. bifidus*, qui n'a pas été retrouvé dans la suite. Sittler ne trouve pas de différences appréciables des flores dans les différents modes d'alimentation ; il a toujours trouvé le *B. perfringens* dans le mucus pariétal de l'intestin. Rodella réunit dans une seule et même espèce le *B. bifidus*, le *B. acidophilus*, et d'autres bacilles que l'on trouve dans les estomacs néoplasiques.

En 1909, Kendall décrit un bacille constamment présent dans l'« infantilisme intestinal » ; ce *B. infantil* ressemble beaucoup au *B. acidophilus* et par certains côtés au *B. bifidus*. La même année, Rach et Reuss publient l'observation d'un cas d'ictère infectieux avec pyélo-néphrite chez un nourrisson au biberon ; l'urine, et après la mort le rein et la vessie, renfermaient un para-coli bacille et un *B. bifidus* indiscutable, obtenu en culture. Jacobson montre que l'on peut transformer la flore intestinale du jeune chien en une flore identique à celle du nourrisson élevé au sein en lui faisant absorber du lait de femme. Cet essai ne porte que sur un seul cas et Jacobson fait remarquer que le jeune chien supporte très mal une alimentation exclusive au lait de femme.

Dans un article très documenté du *Journal of experimental Medicine* de 1910, Noguchi expose des faits nouveaux et assez imprévus. Ses études sur la flore anaérobie des enfants l'ont amené à considérer « le *B. bifidus* de Tissier comme la phase anaérobie d'un microbe aérobie et sporulé, ressemblant beaucoup, par

sa morphologie et ses caractères biologiques, au *B. mesentericus fuscus* ». Noguchi, en outre, pense que ce bacille provient du sein de la mère, par l'intermédiaire du lait, et il fait remarquer que le *B. mesentericus* se trouve très fréquemment dans la glande mammaire. Ces résultats n'ont pas été confirmés dans la suite. Nous trouvons aussi, en 1910, un travail de Blühdorn consacré à l'étude du *B. bifidus* et du *B. acidophilus*. Cet auteur a réussi à préparer des sérums expérimentaux à l'aide de ces bacilles, et a essayé leur agglutination et la fixation du complément. C'est la première fois, à notre connaissance, qu'une étude sérologique des germes intestinaux a été publiée.

En 1911, Distaso range sous le nom de *B. acido-tolérants* tous les bacilles des selles et les classe d'après la nature des acides produits par la fermentation des sucres.

Jusqu'en 1914, il n'a rien été publié sur la flore intestinale du nourrisson. Basten préconise la méthode des dilutions croissantes sur milieux acides pour l'isolement des germes intestinaux ; quel que soit le mode d'allaitement, il a toujours trouvé, dans les selles, le *B. bifidus* et le *B. acidophilus*. W. Logan reprend la classification des bacilles acido-tolérants et dans son étude de la flore des selles, arrive aux mêmes conclusions que Tissier. Kling étudie *in vitro* l'action du *B. bifidus* sur les autres germes et montre que ses propriétés bactéricides sont simplement dues à la formation d'acide lactique à partir du lactose.

La guerre a interrompu le cours des publications.

De 1915 à 1920, nous n'avons trouvé qu'un travail de Mme Braïlowsky-Lounkewitz qui aurait trouvé le *B. bifidus* dans la bouche du nourrisson, un article de Kütke sur la flore de l'intestin du veau, et quelques études de Rettger, Sisson, Torrey sur la flore intestinale de l'adulte.

En 1921, Lauter étudie les conditions de présence du *B. bifidus* chez le nouveau-né et Naujocks s'occupe de la même question à propos du *B. acidophilus*. Dès cette année 1921, A. Adam publie une série d'articles sur les bactéries de l'intestin du nourrisson ; il préconise des milieux spéciaux et insiste sur l'importance du p^m optimum pour l'isolement de la conservation de ces bacilles. Zeissler et Käckell estiment que la notion de p^m optimum est exagérée et en apportent des preuves.

Au cours des années qui suivent, nous trouvons de nombreux travaux sur le *B. acidophilus* ; nous allons les énumérer pour simplifier l'exposé et en terminer avec ce bacille. Jötten assimile le *B. acidophilus* au *B. vaginalis* de Döderlein, et Schlirf réunit dans le même groupe le Bacille de Moro, le *B. bulgaricum*, les bacilles de la carie dentaire et les bacilles du vagin. Torrey et Kahn, Jimenez et Aznar, puis Cannon et Mac Nease montrent que le *B. acidophilus* s'oppose *in vitro* à la putréfaction ; Kopeloff en étudie les applications thérapeutiques en le comparant au *B. bulgaricum*. D'après Kulp, ces deux bacilles n'auraient pas la même action sur les sucres, et il y aurait de nombreuses espèces intermédiaires.

Pour revenir au sujet qui nous occupe, nous trou-

vons en 1924 la série des travaux de Kendall et Hauer sur les bacilles intestinaux. L'étude, très délaissée jusqu'alors, les « Köpfchenbakterien » d'Escherich, est reprise par Schüssler, et Rühle met au point un procédé d'isolement du *B. bifidus* et du *B. acidophilus*.

En 1925 nous signalerons l'excellente étude de Cruickshank sur le *B. bifidus* et le dernier article d'Adam consacré à ce bacille. H. Tissier résume et précise ses travaux antérieurs et donne une nouvelle classification des streptocoques des selles. Mlle Dreyfus s'occupe particulièrement de la flore des selles dans l'allaitement mixte.

Enfin les derniers travaux sur les bactéries intestinales sont dûs à Stransky et ses collaborateurs. Ces auteurs ont entrepris de longues et patientes recherches expérimentales dont les résultats sont rassemblés dans une publication de 1926 qui contient, en outre, de précieuses indications bibliographiques. Leur dernier article sur le *B. bifidus* date de 1927, et c'est là que s'arrête notre documentation.

On voit, par l'ensemble des travaux, l'intérêt de cette étude. Il est plus grand qu'il ne le semblerait au premier abord. Nous verrons plus loin que la flore intestinale est le reflet fidèle de l'état digestif et de l'état nutritif du nourrisson. D'un point de vue plus général encore, il y a une certaine curiosité à constater cette prédominance exclusive de certains saprophytes chez l'enfant nourri au sein.

Enfin la connaissance exacte de cette flore est nécessaire à qui veut pouvoir étudier ultérieurement la flore pathologique des gastro-entérites des nourrissons.

Mais on a pu se rendre compte, en lisant notre historique, qu'il règne encore une certaine obscurité sur beaucoup de points ; ceci est peut-être dû à une terminologie un peu trop complexe et nous verrons que les choses paraissent se présenter plus simplement.

Nous exposerons tout d'abord l'aspect microscopique des selles normales et ses variations ; puis nous étudierons particulièrement les trois principales espèces microbiennes des selles, en indiquant brièvement nos procédés de recherches ; enfin, à la lumière de ces renseignements, nous chercherons à préciser le rôle de la flore intestinale dans l'organisme du nourrisson.

CHAPITRE II

Aspect microscopique des selles de nourrissons

Les examens bactériologiques des selles de nourrisson, pratiqués en série, montrent des variations considérables de la flore avec le mode d'alimentation. Nous envisagerons d'abord le cas de l'enfant nourri au sein, puis celui de l'enfant nourri artificiellement, enfin le cas intermédiaire de l'enfant soumis à l'allaitement mixte.

Ces recherches ont été faites sur les selles d'une centaine d'enfants dont l'âge variait de quelques jours à trois mois. Nous laisserons complètement de côté l'étude beaucoup trop complexe du meconium.

I. — Flore intestinale du nourrisson élevé au sein

Chez l'enfant nourri au sein, la flore des selles est très simple. A l'examen microscopique d'un frottis coloré au Gram sans recoloration, on a l'impression

de ne voir qu'une seule espèce microbienne, comme s'il s'agissait d'une culture pure. C'est un petit bacille rigide, mince, à extrémités tantôt effilées, tantôt arrondies. Au premier abord, on est frappé par l'aspect granuleux de l'ensemble. Certains bacilles sont entièrement colorés, mais beaucoup ne fixent le colorant qu'en certains points (centre, extrémités arrondies), le reste du bacille étant incolore. Si l'on fait un Gram avec recoloration, on voit des bacilles violets, d'autres rouges, d'autres enfin violets et rouges, ce qui pourrait faire penser à des espèces différentes si l'aspect général et les groupements caractéristiques n'étaient pas absolument les mêmes.

Rarement isolés, ces bacilles sont le plus souvent groupés côte à côte en amas très denses, exceptionnellement enchevêtrés ; par endroit leur abondance est telle qu'ils forment un véritable feutrage. Souvent aussi ils sont en diplobacilles qui ressemblent à un gros bâtonnet étranglé par le milieu et avec des extrémités effilées. Il arrive aussi que l'on rencontre des formes avec un bourgeon latéral, ou même une bifurcation très nette.

L'ensemble de ces bacilles inégalement colorés et rangés parallèlement est particulièrement caractéristique.

Nous verrons plus loin que ce bacille qui, malgré son polymorphisme, semble constituer en apparence toute la flore, est le *B. bifidus* de Tissier. Les cultures montrent qu'à côté de lui, mais en quantité minime, il y a constamment de l'entérocoque et du coli bacille passés inaperçus à l'examen direct.

Tant que l'enfant se porte bien et qu'il est placé dans les meilleures conditions d'alimentation et d'hygiène, on ne trouve pas d'autres espèces microbiennes dans les selles ; en particulier, nous n'avons jamais pu déceler la présence du *B. acidophilus* de Moro ou de bacilles voisins ; d'autre part, les milieux ensemencés avec une émulsion de selle chauffée à 60° pendant une demi-heure, sont restés stériles : il n'y a donc pas d'espèces sporulées chez l'enfant nourri au sein.

Variations de la flore normale. Causes

Mais il arrive que cette flore, si simple, se modifie alors que rien n'est changé dans le mode d'alimentation. Les causes de ces variations sont loin d'être toujours évidentes, et si l'on est pas prévenu, on risque de faire des erreurs d'interprétation et c'est probablement pour cela que de nombreux auteurs trouvent illusoire la distinction entre la flore de l'enfant au sein et la flore de l'enfant au biberon.

Dès le début de nos recherches, nous avons été frappé par la diversité des aspects bactériologiques de toute une série de selles prélevées chez des enfants nourris exclusivement au sein. Nous avons appris, dans la suite, que ces nourrissons étaient régulièrement purgés à l'huile de ricin. Tissier a bien montré l'effet des purgatifs sur la flore intestinale : celle-ci ne redevient normale que quelques jours après la cessation de l'effet du médicament ; si, pendant cette période, on examine les selles, on y trouve une flore très analogue à celle de l'enfant nourri au biberon, parfois

même avec des espèces anormales, comme chez un enfant atteint de troubles intestinaux.

Ces perturbations montrent qu'il n'est pas indifférent de purger systématiquement un nourrisson sous prétexte d'aider à ses fonctions digestives ; elles traduisent vraisemblablement un fléchissement de la résistance normale de l'intestin à l'infection et expliquent les troubles digestifs, parfois très sérieux, qui suivent l'administration d'une purge.

Les fautes d'hygiène (malpropreté, absorption d'eau ou de liquides autres que le lait de la nourrice, usage de sucettes souillées, etc.), entraînent aussi d'importantes modifications de la flore. Nous signalons, à plusieurs reprises, au cours de ce travail, le rôle de la menstruation de la nourrice sur la flore des selles du nourrisson. Nous avons observé deux fois ce phénomène ; l'examen des frottis montrait une quantité anormale de cocco-bacilles perdant le Gram et de cocci de tailles variées. En culture, dans tous nos tubes de gélose Veillon, le milieu était disloqué par des gaz, alors que normalement les espèces gazogènes (coli bacille surtout) ne se trouvent que dans les deux ou trois premiers tubes des dilutions successives. Ce fait curieux mériterait d'être étudié plus complètement ; nous n'avons rien trouvé à ce sujet dans nos recherches bibliographiques, sinon qu'il est classique d'admettre que les enfants présentent des troubles variés (troubles digestifs, léger retard pondéral...), pendant les règles de la nourrice. Il faut, vraisemblablement, attribuer cela à des variations de la composition chimique du lait

Enfin, il arrive parfois que la flore se modifie sans raisons. Le plus souvent, on voit apparaître dans la suite, de la diarrhée. Il s'agirait donc là d'un indice de troubles digestifs latents. Nous verrons plus loin les conséquences que l'on peut en tirer.

II. — Flore intestinale du nourrisson alimenté au biberon

Quand on examine des frottis de selles d'enfants nourris au lait de vache, on est surpris de constater qu'ils sont tous différents les uns des autres. Il est impossible de donner un schéma général de cette flore ; on y trouve toujours les mêmes espèces, mais en proportions très variables : tantôt les bâtonnets violets prédominent, tantôt ce sont les cocco-bacilles rouges, parfois, on ne voit guère que des cocci diversement groupés. A l'isolement on trouve le *B. acidophilus*, le *B. exilis*, le *B. bifidus*, le coli bacille, l'entérocoque, des streptocoques, et d'autres espèces inconstantes qui ne sont probablement que des souillures au cours des manipulations (*B. mesentericus*, staphylocoque blanc, levures...).

Chez l'enfant nourri artificiellement, *il est très difficile d'interpréter les variations de la flore*. Elle se modifie d'un jour à l'autre, même chez les enfants entourés des plus grandes précautions hygiéniques, et aussi bien chez ceux qui sont nourris au lait stérilisé. On y rencontre parfois des espèces anormales, en par-

ticulier des bacilles gardant le Gram, munis d'une spore terminale ou subterminale, traduisant un état de réceptivité de l'intestin. A part cela, il faut considérer les variations quantitatives de la flore des selles d'enfants au biberon comme un phénomène sans signification particulière.

III. — Flore intestinale du nourrisson soumis à l'allaitement mixte

Cette flore est plus complexe et plus variable que celle de l'enfant nourri au sein, et là encore, on ne peut pas fixer de règle générale. Cependant on peut dire, sans errer beaucoup, que la flore, dans l'allaitement mixte, est d'autant plus simple que l'enfant est resté plus longtemps au sein maternel et que sa complexité est en raison directe de la quantité de lait de vache ingérée. On y retrouve le *B. bifidus*, le *B. acidophilus*, et en général les mêmes espèces que chez l'enfant alimenté artificiellement. Il serait intéressant de pouvoir constater la dose minima de lait de vache qui correspond au début de transformation de la flore, quand on passe de l'allaitement au sein à l'allaitement mixte. Mais c'est difficile à réaliser et l'on ne sait encore rien de précis à ce sujet.

*
* *

Pouvons-nous expliquer la constitution de ces différentes flores ? Il faut pour cela envisager les facteurs qui dépendent des microbes d'abord et du milieu où ils vivent ensuite.

Le *B. bifidus* est le type du bacille intestinal chez l'enfant ; on ne l'a jamais trouvé ailleurs que dans l'intestin de l'homme et des animaux ; sa présence dans la bouche du nourrisson est plus que douteuse et n'a jamais été démontrée d'une façon absolue. D'où vient ce bacille ? Comment pénètre-t-il dans le tube digestif du nouveau-né ? Ce sont autant de questions auxquelles nous ne pouvons, actuellement, pas répondre. *Nous ne pouvons que constater sa remarquable constance et son abondance dans l'intestin de l'enfant nourri au sein. Cette spécificité est certainement en rapport avec l'alimentation.* Chez l'enfant au sein, les résidus alimentaires sont très peu abondants. D'après Uffelmann, les selles renferment des peptones et des acides aminés, des graisses saponifiées, très peu d'hydrates de carbone, et enfin de l'acide lactique ; d'autre part, les sécrétions intestinales sont légèrement acides, et l'intestin est rigoureusement privé d'oxygène. On conçoit que la flore soit limitée à une espèce adaptée à vivre dans ces conditions : le *B. bifidus* ne demande, pour se développer, que des sucres ; il est sans action sur les graisses, les protéines ou leurs produits de désagrégation ; c'est, de plus, un anaérobie strict qui acidifie fortement le milieu où il vit. On s'explique alors pourquoi il forme à lui seul la presque totalité de la flore des selles.

Le B. bifidus a une affinité particulière pour les résidus digestifs du lait de femme. Nous avons déjà mentionné l'unique essai de Jacobson, qui a pu transformer la flore des selles d'un jeune chien en une flore identique à celle de l'enfant au sein, en lui faisant

absorber du lait de femme. Stransky a bien montré que la flore intestinale des jeunes animaux, alimentés naturellement est beaucoup plus simple que chez ceux qui sont nourris artificiellement au lait de vache stérilisé. Il semble donc bien que, seule, la perfection de la digestion règle la composition de la flore des selles ; mais il y a encore beaucoup d'inconnues dans cette question.

Cette adaptation exclusive du *B. bifidus* pour les résidus du lait de femme est un phénomène biologique curieux. Nous avons vu plus haut que ce bacille ne se retrouve que très raréfié dans l'allaitement artificiel ; dans celui-ci, la diversité de la flore s'oppose à l'uniformité de celle de l'enfant au sein, et cependant les mêmes éléments minéraux, protéiques, graisses et hydro-carbonés se retrouvent, mais dans des proportions différentes, dans le lait de vache. Ces substances ne paraissent pas influencer directement la flore, en particulier l'excès de graisses ; nous avons eu l'occasion d'examiner les selles d'un nourrisson au sein, hospitalisé dans le service de M. le Professeur Mouriquand pour une érythrodermie exfoliatrice, dont le lait de la mère contenait plus de 60 gr. de matières grasses par litre : sa flore intestinale était absolument normale.

En somme, on ne peut pas donner d'explication satisfaisante de la constitution de la flore et de ses variations. Il y a des facteurs qui nous échappent encore et nous allons voir dans le chapitre suivant que les microbes des selles sont encore très imparfaitement connus.

CHAPITRE III

Description des principales espèces microbiennes des selles du nourrisson

Nous avons vu la constitution de la flore telle qu'elle apparaît à l'examen direct. Lorsque l'on fait des cultures, on trouve, nous l'avons déjà dit, trois espèces ; nous n'en retiendrons que deux, le *B. bifidus* qui constitue la majeure partie de la flore, la seule qui soit décelable à l'examen direct, et l'entérocoque.

A côté du *B. bifidus*, on a décrit le *B. acidophilus* (Moro), le *B. exilis*, et pour certains auteurs, tous ces germes se confondent. Nous étudierons ces bacilles, quoiqu'ils soient absents des selles normales de l'enfant nourri au sein. Notre but sera de situer le cadre nosologique de ces différents germes.

Il ne semble pas que l'on doive retenir les espèces sporulées des selles, décrites par Rodella, Klein, Miller, etc..., ni les agents de la fermentation butyrique et en particulier le *B. perfringens* (Sittler). Leur cons-

tation dans les selles tient sans doute à ce qu'ils ont été observés chez des enfants malades ou simplement troublés dans leur digestion, et nous avons déjà signalé les variations de la flore dans ces conditions.

Ainsi comprise, l'étude de la flore intestinale du nourrisson devient plus simple, et son observation peut prendre un intérêt clinique sur lequel nous insisterons plus loin.

L'entérocoque, autre espèce constante des selles du nourrisson élevé au sein, a été très étudié. Si nous rappelons plus loin ses principaux caractères, c'est surtout pour argumenter notre conception de l'unicité des cocci des selles du nourrisson, car nous ne pensons pas, comme nous le développerons bientôt que l'on doive retenir les multiples streptocoques décrits dans de telles conditions.

Nos observations ont été faites dans les conditions suivantes :

PRÉLÈVEMENTS. — A l'aide d'un écouvillon stérile, nous prélevons les selles dans les langes. Ce procédé, simple et commode, donne de bons résultats à condition d'observer certaines précautions (selles fraîchement émises, stérilité des langes,ensemencements aussi rapides que possible). Dans le cas d'enfant nourri au sein, il faut s'assurer de l'alimentation exclusive au lait maternel, des bonnes conditions d'hygiène et de l'absence de troubles digestifs spontanés ou provoqués par une purgation ; enfin on ne considérera pas comme normales les selles des enfants pendant les périodes menstruelles de la nourrice. Tous ces facteurs modifient la flore des selles, et il faut en être prévenu.

Examens. — Nous faisons d'abord un examen à l'état

frais, entre lame et lamelle, pour rechercher les formes mobiles et les groupements caractéristiques. Puis nous faisons quelques étalements très minces qui, après fixation à l'alcool, sont colorés au Gram avec et surtout sans recoloration à la fuchsine diluée pour faire ressortir davantage l'aspect granuleux caractéristique du *B. bifidus* dans les selles. Il n'est pas utile, en pratique, d'employer d'autres procédés de coloration. Cet examen nous renseigne sur l'aspect général de la flore, sa richesse en germes, leur mobilité et leurs caractéristiques morphologiques, etc...

MÉTHODES D'ISOLEMENT ET DE CULTURE. — Nous avons essayé un grand nombre de procédés, tant pour l'isolement des espèces que pour leur conservation. Finalement, nous nous sommes arrêtés à une technique très simple : on fait une émulsion de selle dans du bouillon ordinaire, d'autant moins épaisse que l'examen a montré plus de germes, que l'onensemence par dilutions successives dans trois séries de 10 tubes. La première série de tubes contient de la gélose Veillon, la 2^e du bouillon lactosé au p^h 5 sous huile, et la 3^e le même bouillon au p^h 4. On fait, en outre, les étalements sut boîte de Pétri (gélose sang, gélose sucrée). On surveille tous les jours l'aspect des cultures, leurs particularités, et l'examen au microscope du contenu de chaque tube est pratiqué quotidiennement. Les espèces isolées sont étudiées suivant les procédés classiques ; pour le *B. bifidus*, il faut contrôler l'anaérobiose stricte de chaque espèce isolée.

Le milieu de choix pour l'isolement des microbes intestinaux est le bouillon lactosé anaérobie. C'est du bouillon ordinaire avec 1,5 % de lactose. Nous l'employons au p^h 5 et au p^h 4, déterminés par la méthode colorimétrique (indicateur rouge de méthyle) ; pour l'acidification, la nature de l'acide importe peu.

Réparti dans des tubes, ce bouillon est recouvert d'une couche de 1 cm. d'huile de vaseline, et stérilisé à l'autoclave avec les précautions habituelles pour les milieux sucrés. Au mo-

ment de l'emploi, on régénère les tubes suivant la technique connue de la culture des anaérobies.

La gélose Veillon est également un excellent milieu d'isolement. Son grand avantage est de s'appliquer à l'isolement de tous les germes. Nous avons essayé le babeurre, le petit-lait lactosé ou non, sans avantages bien marqués sur le bouillon lactosé.

Comme milieux solides aérobies, nous employons la gélose ordinaire, la gélose lactosée et parfois la gélose au sang, en boîtes de Petri.

AGGLUTINATION. — Nous avons essayé d'étudier spécialement les propriétés sérologiques du *B. bifidus*. Pour cela, nous avons préparé un sérum expérimental et pratiqué l'agglutination de nos souches. Nous avons également utilisé la méthode de saturation des agglutinines. Le sérum expérimental a été préparé avec une souche de *B. bifidus* identifié, provenant de l'Institut Pasteur de Paris. Elle a été inoculée au lapin (voie veineuse) en trois séries, à une semaine d'intervalle de trois injections quotidiennes (soit 9 injections à doses progressives de 2 milliards de germes tués à 8 milliards de germes vivants). Les agglutinations sont recherchées, avec des émulsions microbiennes en eau physiologique, jusqu'à 1/400. Ces émulsions sont assez difficiles à obtenir, mais néanmoins elles sont suffisamment stables.

La saturation des agglutinines a été effectuée après deux contacts des germes à étudier avec le sérum expérimental.

Bacillus bifidus Communis

Ce bacille fut isolé par Tissier dans les selles de nourrissons au sein dont il constitue la presque totalité de la flore. On le trouve décrit pour la première fois en 1900 dans la thèse de H. Tissier et depuis cette époque, il a été très étudié ; depuis la guerre, on semble s'en désintéresser, en France surtout. La plupart des résultats correspondent à peu près à la description originale ; cependant beaucoup s'en écartent sensiblement, ce qui laisse penser que les divers auteurs se sont placés dans des conditions de recherche très différentes.

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — C'est un bacille très polymorphe. Dans les selles, il apparaît comme un bacille mince, à extrémités effilées, long de 2 à 4 μ , rarement isolé, le plus souvent groupé en diplobacille ; ils s'articulent parfois par leurs extrémités renflées à la façon d'un genou (formes géniculées de Tissier). On voit aussi des amas d'éléments disposés parallèlement les uns aux autres, rarement enchevêtrés. Dans les cultures jeunes, il se présente sous la forme de bacille diphtérimorphe ; dans les cultures plus vieilles, les formes sont plus longues, souvent en massue, mais on y trouve surtout des bacilles bifur-

qués ou avec des bourgeons latéraux. Dans certains cas, ces bacilles deviennent vésiculeux, avec une mince membrane d'enveloppe colorée et étranglée par endroit : ce sont les formes vésiculeuses de Tissier. Pour lui, la taille et les bifurcations seraient en rapport avec la nature du milieu et l'âge de la culture, les formes vésiculeuses avec la vitalité ; Moro pense que les formes bifurquées ou simplement renflées ne correspondent pas à des degrés d'involution, mais à des causes purement mécaniques ; les formes vésiculeuses seraient dues simplement à la différence des pouvoirs osmotiques des bacilles et du milieu de culture. A. Adam nous dit que si l'on n'obtient pas en culture des formes de *B. bifidus* analogues à celles que l'on voit sur les frottis, c'est parce que les milieux sont à un p^a différent de celui des selles, la morphologie étant, d'après lui, en rapport étroit avec le p^a . *Nous avons observé que les variations de formes étaient le plus souvent en rapport avec l'âge de la culture*, et que la morphologie est assez peu influencée par les variations du p^a du milieu. Quant aux formes vésiculeuses, nous en avons rencontré plusieurs fois ; repiquées sur un milieu neuf elles n'ont jamais repoussé ; on peut donc admettre que ce sont des formes de dégénérescence. Kendall et Hauer distinguent trois variétés de *B. bifidus*, les formes simples, les formes bifurquées et les formes vésiculeuses qui auraient des propriétés biologiques différentes, en particulier les fermentations des sucres. Nous croyons que cette distinction est un peu artificielle, et *nous avons toujours pu obtenir des formes bifurquées à partir des formes simples en les lais-*

sant vieillir dans le même milieu. Cependant certaines souches paraissent définitivement fixées dans leur morphologie ; la souche de l'Institut Pasteur, par exemple, est parfaitement stable et toujours semblable à elle-même malgré de nombreux passages dans les milieux variés : c'est un petit cocco-bacille ovalaire, court, formant des amas réguliers, chez lequel nous n'avons jamais observé de variations de taille, ni de bifurcations.

Le *B. bifidus* est immobile (Tissier). Cependant Moro le trouve animé de mouvements, au moins dans ses formes simples, et il se défend d'avoir confondu le mouvement propre du bacille avec les mouvements browniens. Evidemment, il est parfois assez difficile d'apprécier la mobilité d'un microbe, cependant *le B. bifidus, aussi bien dans les selles qu'en culture nous a toujours paru immobile.*

La coloration varie avec l'âge de la culture. Le *B. bifidus* prend le Gram, mais se décolore facilement et d'autant plus que la culture est vieille. Souvent la coloration violette ne persiste qu'aux extrémités renflées du bacille, aux points de bifurcation, donnant ainsi un ensemble granuleux caractéristique. Parfois certains bacilles sont colorés en violet, les autres en rouge ce qui donne à la préparation un aspect polychrome. Nous avons recherché, mais sans succès, les corpuscules métachromatiques par le procédé de Neisser. Moro a trouvé que certaines vieilles souches de *B. bifidus* sont acido-résistantes, mais il ne croit pas que ce soit un caractère constant ; nous n'avons ja-

mais rencontré, dans nos souches de formes acido-résistantes.

CONDITIONS DE VÉGÉTATION ET DE CULTURE. — Le *B. bifidus* est un anaérobie strict d'après la grande majorité des auteurs ; nous savons déjà que Noguchi considère la vie sans air comme un stade dans l'existence de ce bacille, qui peut se transformer en un bacille aérobie mobile et sporulé, puis redevenir anaérobie et immobile ; or ce développement cyclique n'a pu être reproduit et il est probable, comme Noguchi le fait pressentir, que la forme aérobie n'est pas autre chose que le *B. mesentericus*. Kuthe classe le *B. bifidus* et le *B. acidophilus* dans le même groupe de bacilles aérobies facultatifs, auquel il donne le nom de *B. acidophilus polymorphus* ; mais ses arguments sont très discutables, et ses travaux ont porté exclusivement sur des bacilles de l'intestin du veau. Cahn signale que la symbiose, *B. bifidus* et *B. acidophilus*, se développe parfaitement à l'air ; Basten fait la même remarque. Zeissler et Kaeckell auraient pu obtenir de très fines cultures à la surface de plaques de gélose à l'hématine d'Adam. *Nous avons toujours observé que le B. bifidus est très sensible à l'oxygène de l'air et qu'il ne se développe qu'en anaérobiose stricte.*

Le *B. bifidus* pousse surtout à 37°, mais pas au-dessous. Moro a montré qu'il était sensible au froid. Nous avons remarqué que si on laisse trop longtemps (une dizaine de jours) certaines souches à la température du laboratoire, elles ne repoussent plus. Chauffé à 60°

pendant un quart d'heure, ce bacille est tué ; il n'a donc pas de spores. Rodella, puis Blühdorn, en chauffant leurs souches, auraient obtenu cependant, après repiquage, un développement normal.

L'acidité du milieu de culture a suscité de nombreuses recherches. La plupart des auteurs recommandent les milieux acides (Moro, Lauter, Blühdorn, etc...), et récemment A. Adam a insisté sur la nécessité d'un pⁿ optimum, compris entre 4,3 et 5,9, en moyenne 5,1, pour le bon développement du *B. bifidus*. Il a pu ainsi obtenir ce qu'il appelle les formes normales du *B. bifidus* identiques à celles que l'on voit dans les selles d'enfants au sein. Nos bacilles poussent très mal au pⁿ 4, mais aussi bien qu'au pⁿ 5 qu'au pⁿ 7 ; Zeissler et Kaeckel ont obtenu les mêmes résultats. Néanmoins pour l'isolement, il est bon d'utiliser des milieux franchement acides (pⁿ 5).

Le B. bifidus ne pousse pas sur les milieux ordinaires ; c'est un fait certain, déjà signalé par Tissier. Cependant Moro aurait pu obtenir des cultures sur la plupart des milieux habituels, sauf sur gélatine. De nombreux milieux spéciaux ont été recommandés : gélose Veillon (Tissier, Moro), bouillon lactosé au lait de femme (Jacobson), bouillon de Tarozzi avec 0,5 % d'acide acétique (Lauter), bouillon lactosé à l'hématine avec du marbre ou du coke dans le fond du tube (Adam), petit-lait lactosé avec du marbre dans le fond du tube (Stransky). En pratique nous avons toujours obtenu de bons résultats avec le bouillon lactosé à 1,5 % sous huile de vaseline, et avec la gélose Veillon.

Le développement se fait en 24 h. ou 48 heures sur bouillon lactosé et en quelques jours sur gélose Veillon.

Sa vitalité en culture a été fixée à 3 semaines (Tissier) ou à un mois (Moro). *En réalité il ne doit pas rester plus de quinze jours sans être réensemencé.*

CARACTÈRES DES CULTURES. — En gélose Veillon on voit apparaître au bout de trois jours de fines colonies blanchâtres, s'arrêtant à 3 cm. de la surface pour former un anneau; ces colonies, quand elles sont isolées, grossissent et deviennent lenticulaires, avec un petit prolongement sur l'une des faces. Leur taille peut atteindre 4 mm. Il ne se forme jamais de gaz. Moro, puis Jacobson insistent sur la consistance dure des colonies, qui s'enlèvent d'un seul bloc et sont difficiles à émulsionner. En outre, Jacobson compare les colonies lenticulaires intriquées à une graine d'ombellifère, de forme très caractéristique.

En bouillon sucré, Tissier ne signale un trouble qu'au troisième jour. *En bouillon lactosé nous obtenons régulièrement en 24 ou 36 heures un trouble, qui se sédimente au bout de quelques jours, sans disparaître complètement.* D'ailleurs ces cultures en milieu liquide n'ont rien de caractéristiques. Nous avons obtenu de bonnes cultures sur le lait avec coagulation, en anaérobiose rigoureuse. Tissier, puis Moro n'avaient primitivement jamais observé *la coagulation du lait, qui est la règle si l'on a soin de se tenir dans des conditions suffisantes d'anaérobiose.* Sur petit-lait sous huile de vaseline, les cultures sont très maigres; elles sont plus abondantes si le milieu contient un

excès de lactose, mais elles ont les mêmes caractères que les cultures en bouillon.

Les fermentations sucrées semblent n'avoir pas été beaucoup étudiées. Personnellement nous n'avons pas encore essayé l'action du *B. bifidus* sur les sucres, et dans la littérature, on ne trouve que de vagues indications. Tissier au début, croyait que son bacille n'agissait pas sur le lactose, puis il vit plus tard, ainsi que tous les chercheurs, que tous les sucres étaient attaqués. Kendall et Hauer nous apportent des précisions et trouvent qu'à chacune des trois variétés morphologiques qu'ils décrivent, correspondent des propriétés fermentatives différentes : les trois variétés feraient fermenter glucose, lévulose, mannose, galactose, lactose et saccharose, mais le type I n'attaque pas ce dernier sucre, le type II fermente la mannite, et le type III attaque en plus mannite, sorbite et dextrines ; il y aurait des types intermédiaires.

AGGLUTINATION. — Blühdorn fut le premier qui chercha à agglutiner des cultures en bouillon de *B. bifidus* avec un sérum expérimental. Il s'est heurté à des difficultés techniques à cause de l'instabilité des cultures qui se sédimentent spontanément. Néanmoins, il a pu obtenir l'agglutination à des taux variant de 1/80 à 1/160. Par contre, il a montré que ce sérum ne fixait le complément qu'en présence de l'antigène correspondant à l'exclusion de tout autre (*B. acidophilus* en particulier). Cruickshank, en 1925, a repris l'étude de l'agglutination du *B. bifidus*. A notre connaissance, ce sont les seuls auteurs qui ont étudié cette question.

Nous avons entrepris de rechercher si le *B. bifidus* est une espèce bien définie au point de vue de l'agglutination, ou si, au contraire, il comporte des variétés sérologiques. Le sérum préparé avec la souche de l'Institut Pasteur agglutine les bacilles correspondant à des taux variant de 1/150 à 1/300 ; avec nos autres souches, l'agglutination ne dépasse pas 1/20. On ne peut évidemment pas conclure sur de tels résultats, mais on voit cependant que toutes les souches ne se comportent pas de la même façon vis-à-vis d'un sérum donné.

INOCULATIONS ET ACTION PATHOGÈNE. — D'après Tissier, le *B. bifidus* s'est toujours montré inoffensif pour la souris et le cobaye, en injections sous-cutanées et en ingestion. Blühdorn signale que les injections intra-veineuses et intra-péritonéales sont pathogènes pour le lapin. *Nous n'avons pas observé cette action pathogène chez le lapin, qui, dans nos essais, a toujours bien supporté de fortes doses de bacilles vivants émulsionnés en eau physiologique.*

Il existe deux observations, l'une de Rach et Reuss à propos d'un ictère infectieux avec pyélo-néphrite chez un nourrisson, l'autre d'Albarran et Cottet dans une infection urinaire, où le *B. bifidus* a été trouvé au niveau des lésions. Ces auteurs ne lui attribuent pas de rôle pathogène.

Il nous resterait à étudier les rapports du *B. bifidus* avec les espèces voisines ; pour plus de simplicité, nous ne le ferons qu'après avoir décrit le *B. acidophilus*.

Bacillus acidophilus

En janvier 1900, E. Moro isole des selles d'enfants nourris au sein, un bacille gardant le Gram. A la même époque, et indépendamment de Moro, Frinkelstein décrit un bacille analogue dans les selles de nourrissons malades. Un peu plus tard, Escherich trouve ce même bacille dans certains cas de choléra infantile et le considère comme l'agent causal (blau bazillöse). H. Tissier avait déjà rencontré ce bacille, au cours de ses travaux, mais seulement chez les enfants nourris artificiellement.

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Dans les selles, c'est un gros bacille trapu, de 4 à 12 μ de long, droit, à extrémités arrondies, sans renflements ni étranglements. Certaines formes, plus petites, ne peuvent se distinguer du *B. bifidus*. Dans les cultures, la forme varie avec les milieux. Sur les milieux solides et aérés, il est ovoïde et souvent groupé en courtes chaînettes d'éléments inégaux ; dans les milieux liquides, il conserve sa forme cocco-bacillaire, et constitue souvent de longues chaînettes. En anaérobiose, les formes longues sont la règle, d'autant plus longue que la culture est plus vieille, on y voit des filaments droits,

le plus souvent ondulés qui s'enchevêtrent pour former de véritables écheveaux ; ces filaments ont les extrémités effilées, quelquefois en spatule. On ne voit ni bifurcations, ni bourgeons latéraux ; Rodella, puis Finkelstein auraient vu des formes bifurquées, mais tous les auteurs insistent simplement sur le grand polymorphisme et ne parlent pas de bifurcations vraies.

Le *B. acidophilus* est immobile. Il se colore facilement, et garde le Gram d'une façon très uniforme ; les formes vieilles se décolorent très facilement.

CONDITIONS DE VÉGÉTATION ET DE CULTURE. — Ce bacille est un anaérobie facultatif, et on doit le considérer comme un intermédiaire entre les anaérobies stricts et les aérobies, car il pousse assez mal dans les deux cas. Il se développe surtout à 37°, très peu à 20° et pas du tout aux températures plus basses, mais il peut se conserver longtemps, sans inconvénients, à la température ordinaire.

Ce bacille, chauffé à 60° pendant une demi-heure, ne repousse plus ; il ne possède donc pas de spores. Blühdorn, comme pour le *B. bifidus*, admet l'existence de spores, ses bacilles ayant toujours résisté à la chaleur.

E. Moro l'a nommé *acidophilus* parce qu'il croyait à une affinité spéciale pour les milieux acides (en particulier, milieu au moût de bière). H. Tissier montra qu'il pousse surtout dans les milieux sucrés en les acidifiant fortement. Il est évident que ce bacille se développe encore dans des milieux d'une acidité telle que les autres espèces (sauf le *B. bifidus*) ne peuvent résis-

ter. C'est pourquoi Rodella, Distasò et d'autres dans la suite, ont proposé le qualificatif d'acido-tolérant (Säuretragende en allemand) plus exact qu'acidophile.

A. Adam fixe son p^m optimum autour de 5.

Le *B. acidophilus* a une vitalité de deux mois environ. Certaines de nos souches, repiquées au bout d'un mois, n'ont pas repoussé.

Il pousse sur tous les milieux ordinaires, sauf sur gélatine ; mais il ne se développe bien que sur les milieux sucrés.

CARACTÈRES DES CULTURES. — Sur gélose ordinaire, on voit apparaître en trois jours des petits points transparents, ressemblant à des gouttes de rosée, qui s'opacifient et blanchissent rapidement. En gélose Veillon, il y a déjà en 24 heures de petites colonies dans la profondeur puis sur toute la hauteur de la gélose ; ces colonies sont irrégulières, avec de très fins prolongements donnant l'impression de paquets de cheveux ; il ne se forme pas de gaz. Sur gélatine nous n'avons rien obtenu ; Jacobson seul aurait obtenu des cultures sans liquéfaction du milieu.

En bouillon ordinaire, aérobie ou non, il pousse d'une façon insignifiante ; en bouillon sucré, il se fait un trouble en 24 heures qui se dépose rapidement au fond du tube en une masse granuleuse.

Le lait de vache est rapidement coagulé. D'après Moro, ce bacille serait sans action sur le lait de femme.

D'après Kulp, le *B. acidophilus* fait fermenter : glucose, lactose, galactose, lévulose et surtout maltose. Nous n'avons pas étudié les réactions sucrées.

AGGLUTINATION. — Comme pour le *B. bifidus* elle fut essayée pour la première fois par Blühdorn, mais sans succès à cause du caractère floconneux des cultures en bouillon ; cet auteur a pu montrer que le sérum anti-acidophilus ne fixait le complément qu'en présence de l'antigène correspondant.

Nous n'avons pas préparé de sérum avec le *B. acidophilus* ; nous avons simplement comparé nos souches avec le sérum anti-bifidus en essayant de saturer les agglutinines. Le tableau suivant résume nos résultats. La souche A est le *B. bifidus* qui a servi à préparer le sérum ; les souches B et C correspondent à la description du *B. exilis* de Tissier dont nous parlerons dans un instant, les souches D, E et F répondent au *B. acidophilus* de Moro.

Taux d'agglutination de la souche A par :	$\frac{1}{12}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$	$\frac{1}{400}$
Le sérum anti-A saturé par B.	+	+	+	+	+	—
» » C.	+	+	+	+	+	—
» » D.	+	+	+	+	+	—
» » E.	+	+	+	+	+	—
» » F.	+	+	+	+	+	—
» » A.	—	—	—	—	—	—
» non saturé .	+	+	+	+	+	—

Nous voyons donc qu'aucun de ces bacilles n'a saturé le sérum.

ACTION PATHOGÈNE. — Inoculé à l'animal, le *B. acidophilus* n'est pas pathogène. Cependant Blühdorn

lui attribue une certaine noscivité pour le lapin. Cahn l'aurait trouvé, à l'autopsie, dans le sang du cœur d'un enfant mort de diarrhée aiguë. Escherich, ainsi que Finkelstein, Salge et d'autres en faisaient l'agent causal de certaines gastro-entérites du nourrisson.

ANALOGIES AVEC LES ESPÈCES VOISINES. — Nous auront surtout en vue les analogies entre le *B. acidophilus* et les bacilles dits acido-tolérants abondamment représentés dans la nature, et nous étudierons à part ses rapports avec le *B. bifidus*.

Actuellement, on a tendance à faire entrer dans le même groupe des bacilles de ce type, d'origines très diverses. Leurs caractères communs sont le polymorphisme, la coloration au Gram, l'immobilité, l'absence de spores, l'aérobiose facultative, mais ils diffèrent cependant par leurs caractères culturels, le degré d'acidification des milieux, la formation de gaz et leur action sur le petit-lait tournesolé, ce qui amène Schlirf à décrire sous le nom d'*acidobacterium* les cinq variétés suivantes : *lactis*, *aerogenes*, *Moroï*, *Döderleini* et *bulgaricum*. Cet auteur assimile aussi le *B. de Moro* aux bacilles du tube digestif acidifiant le lait (*B. gastrophilum*, etc.), Naujocks admet que le *B. acidophilus* est identique au *B. vaginalis* et Goalby, Kliger, Mac Intoch le rapprochent des bacilles gardant le Gram des caries dentaires. Enfin les bacilles acidophiles des laits fermentés orientaux (*B. bulgaricum* du Yoghourt, *B. Mazun* du mazoum, *B. Caucasicus* du Kéfir) seraient très voisins du *B. acidophilus* ; Jötten, en particulier, montre que le *B. bulgaricum* ne se distingue du *B. de*

Moro que par le degré d'acidification du bouillon et par l'absence de fermentation du maltose.

Nous avons trouvé, dans des travaux récents, une concordance parfaite sur le mode d'action de ces bacilles. Torrey et Kahn démontrent, *in vitro*, que les acidophiles empêchent le développement des espèces protéolytiques par la fermentation des sucres génératrice d'acides, ce qui est confirmé par Jimenez et Aznar. On a alors songé à utiliser ces bacilles dans la thérapeutique des affections intestinales ; depuis longtemps d'ailleurs, et surtout sous l'impulsion de Metschnikoff et de Tissier, on emploie les ferments lactiques dans ce but. Kulp a montré que ces ferments lactiques ne peuvent s'acclimater dans l'intestin, alors que le *B. acidophilus* y séjourne assez longtemps. Kopeloff rapporte des observations de malades améliorés par ingestion de cultures en bouillon de ce bacille à très hautes doses (1 litre par jour), aussi bien dans la constipation opiniâtre que dans les diarrhées graves.

Enfin il nous faut parler maintenant d'une espèce très voisine, le *B. exilis* de Tissier. Nous avons eu l'occasion d'en étudier deux souches, isolées des selles d'enfants au sein présentant des troubles digestifs légers. La morphologie de ce bacille est très spéciale ; dans les selles, il ne peut se distinguer des autres espèces ; en culture on voit des petits bacilles à bouts carrés formant de longues chaînettes flexueuses d'éléments égaux, ou des amas très réguliers. Les cultures sur gélose ordinaire sont très maigres et rappellent celle des streptocoques ; le bouillon lactosé se trouble en 24 heures, et ce trouble se dépose rapidement en

un amas de petits flocons blancs ; le milieu est nettement acidifié. Ces bacilles coagulent le lait. En gélose Veillon, les colonies sont régulières, sphériques et se développent sur toute la hauteur de la gélose, sans produire de gaz.

Ces caractères sont, à quelques détails près, ceux du *B. exilis* ; il ne se distingue du *B. de Moro* que par sa morphologie constante et ses colonies régulières en gélose Veillon. Ces bacilles sont tellement voisins qu'ils ont été souvent confondus. Le *B. exilis* est fréquemment décrit comme une forme de *B. acidophilus* et c'est probablement pour cela que Blühdorn propose de donner à ce dernier bacille le nom de *Streptobacillus faecalis*. Ceci prouve bien que l'on ne saurait enfermer ces bacilles en des groupes distincts ; l'existence d'espèces intermédiaires rend illusoire cette systématisation.

Enfin le *B. exilis* et le *B. acidophilus* paraissent avoir été souvent confondus avec l'entérocoque, ce qui s'explique par le polymorphisme de ce microbe et aussi par la difficulté que l'on a de l'éliminer des cultures de bacilles intestinaux.

Comparaison entre le *B. bifidus* et le *B. acidophilus*

Certains auteurs rangent tous ces microbes dans une même famille, mais la plupart en font trois espèces distinctes, le *B. bifidus*, le *B. acidophilus* et le *B. exilis*.

Rodella estime « qu'il n'y a pas de preuves permettant de différencier le *B. bifidus* du *B. acidophilus*, mais qu'au contraire, tous les caractères morphologiques et culturels concordent parfaitement ». Kuthe est du même avis.

La plupart des auteurs modernes sont moins catégoriques, et admettent qu'il s'agit bien de bacilles différents. Comme transition entre ces deux doctrines, Cahn, qui n'a pu obtenir que des colonies mixtes de *B. bifidus* et de *B. acidophilus*, pense à une véritable symbiose.

En réalité, les conditions de vie et les caractères bactériologiques de ces deux bacilles sont très différents. Le *B. bifidus* est avant tout un anaérobie strict ; sa morphologie très spéciale, la grande fréquence de ses formes d'involution, l'absence de développement sur les milieux ordinaires sont autant de caractères qui l'opposent au *B. acidophilus*.

Ce bacille est, en effet, aérobie facultatif et pousse sur tous les milieux ; son polymorphisme n'est dû qu'à des variations de taille, et non à des formes d'involution. Il se distingue aussi du *Bifidus* par l'agglutination, mais ce n'est pas un bon critérium puisque nous avons vu qu'il y a des différences entre les diverses souches de cette même espèce.

Nous croyons donc qu'il s'agit de deux espèces distinctes.

Par contre, le *B. exilis* de Tissier paraît bien être une variété de *B. acidophilus* dont il ne diffère que par sa morphologie constante et quelques détails culturels.

D'ailleurs ces deux variétés coexistent presque toujours dans les selles.

Si nous admettons que le *B. bifidus* et le *B. acidophilus* sont deux microbes différents, on peut se demander si ces deux espèces sont normales, ou si l'une d'elles est anormale.

Certains auteurs ont attribué un rôle pathogène au *B. acidophilus* ; mais ce rôle n'a pas été démontré formellement, et nous admettons que ces deux bacilles sont des saprophytes normaux dont les conditions de présence sont réglées par l'alimentation. *L'espèce normale des selles est indiscutablement le B. bifidus qui caractérise la flore de l'enfant au sein ; il représente au moins 95 % de la totalité des germes, et, quoiqu'en disent certains auteurs, on n'y trouve pas le B. acidophilus qui n'apparaît que dans les cas d'allaitement artificiel.*

D'après ce que nous savons actuellement, le *B. bifidus* est donc l'espèce normale des selles du nourrisson, mais dans l'alimentation artificielle on trouve des espèces accessoires, *B. acidophilus* et *B. exilis*, qui sont dénuées de tout rôle pathogène, mais qui, néanmoins doivent être considérées comme normales.

L'Entérocoque

Longtemps confondu avec le pneumocoque et le streptocoque, ce microbe fut décrit par Thiercelin en 1899. Escherich l'avait déjà signalé, mais non isolé, dans les selles du nourrisson, sous le nom de micrococcus ovalis.

L'entérocoque a surtout été étudié en tant qu'agent pathogène ; Thiercelin l'a trouvé dans certaines entérites de l'enfant ou de l'adulte ; Sacquépée dans des intoxications alimentaires ; il se rencontre aussi dans des septicémies, les méningites, etc. ; parfois c'est un agent d'infection secondaire au cours de certaines maladies aiguës. Enfin, A. Dufourt a montré la place importante qu'il occupait dans l'étiologie des broncho-pneumonies.

Nous n'avons pas la prétention de donner une étude complète de l'entérocoque. Nous ne ferons que signaler les caractéristiques de ce saprophyte de l'intestin de l'enfant d'après les souches que nous avons isolées des selles de nourrisson.

CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES. — Dans les selles, c'est un diplocoque en flamme de bougie, dont les grains sont de tailles très variables ; il est entouré

d'une auréole claire, mais ne possède pas de capsule vraie. En culture, sa forme varie beaucoup avec le temps et les milieux ; nous n'insisterons pas sur ses différentes formes (amas, chaînettes, croix de Malte, formes géantes...), qui sont classiques. Nous signalerons seulement la fréquence des formes bacillaires dans les vieilles cultures en bouillon anaérobie, qui sont à l'origine de bien des confusions.

Immobile, l'entérocoque garde le Gram ; les formes âgées se décolorent assez facilement. Nous n'avons jamais trouvé de capsules.

CONDITIONS DE VÉGÉTATION ET DE CULTURE. — L'entérocoque se développe aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose, peut-être même mieux dans cette dernière condition. La température optima est 37°. mais il pousse aussi à 20°. C'est un microbe très vivace, qui pousse sur tous les milieux ; il n'est pas sporulé, bien que sa résistance à la chaleur soit plus élevée que pour les autres espèces, ce qui peut servir d'après Schönfeld, de caractère différentiel avec les autres cocci. Il est doué d'une grande vitalité sur les milieux ordinaires, variant de un mois à trois mois, et constituant un excellent caractère différentiel.

L'entérocoque se développe aussi bien dans les milieux au pⁿ 5 que dans les milieux au pⁿ 7 ; il pousse encore, mais beaucoup moins, au pⁿ 4, en conservant sa vitalité ; on s'explique alors la difficulté que l'on a de l'éliminer, dans l'isolement des bacilles intestinaux au moyen des dilutions progressives en milieu acide.

CARACTÈRE DES CULTURES. — Sur gélose ordinaire, on obtient en 24 heures des colonies en goutte de rosée, qui grossissent et s'opacifient ; sur gélose T, les colonies sont beaucoup plus grosses, mais jamais confluentes. Sur gélatine, il pousse lentement en donnant une mince pellicule blanchâtre, sans liquéfier le milieu. En bouillon ordinaire, il se fait un trouble blanchâtre en 24 heures, qui se dépose rapidement en un amas visqueux ; quand on agite le tube, ce dépôt s'élève en tire-bouchon dans le liquide clair ; les cultures sont identiques, mais plus abondantes, en bouillon sucré (lactosé surtout). Dans les milieux anaérobies, le développement est souvent plus rapide ; en gélose Veillon, les colonies sont lenticulaires, très régulières et s'arrêtent à 1 cm. de la surface ; il ne se produit pas de gaz. Le lait est coagulé en deux jours.

Sur les milieux au sang, l'hémolyse ne se fait pas. L'entérocoque se développe parfaitement en bouillon ordinaire bilié à 15 %, alors que les streptocoques ne poussent pas et que le pneumocoque est lysé. Enfin, parmi les fermentations des sucres, une seule est importante comme caractère différentiel, c'est celle de l'Esculine. Rochaix a montré que l'entérocoque fait fermenter l'esculine, alors que le pneumocoque et les streptocoques sont sans action sur elle. Le milieu à l'esculine est préparé de la façon suivante : on ajoute à de la gélose ordinaire 1 % d'esculine et 1 % de citrate de fer ; l'entérocoque dédouble la glucoside en glucose et en un diphénol, l'esculétine qui réduit alors le citrate de fer en donnant une coloration noire

encre à la gélose. Pour avoir de la valeur, le virage doit se faire dans les 24 heures, car certains cocci peuvent dédoubler l'esculine à la longue.

VIRULÉNCÉ. — H. Tissier n'a rien obtenu par injection sous-cutanée à la souris et au cobaye. Pourtant de nombreux auteurs signalent l'action pathogène de l'entérocoque chez la souris, en injection et même en ingestion.

CARACTÈRES DIFFÉRENTIELS. — L'entérocoque doit être d'abord distingué des streptocoques. Nous ne nous occuperons ici que des streptocoques des selles. Booker, puis Hirsch et Libbmann ont décrit en 1897 un diplocoque dont la description rappelle singulièrement celle de l'entérocoque (polymorphisme, grande vitalité, caractère des cultures), comme l'ont fait remarquer Escherich, puis Thiercelin. En 1900, Cottet et Tissier ont isolé des selles un streptocoque ne gardant pas le Gram ; ce streptocoque est très petit, et forme souvent de longues chaînettes. Il vit plus d'un mois en culture ; ses caractères cultureux n'ont rien de caractéristique. Il est difficile de comparer rétrospectivement ces streptocoques à l'entérocoque, puisqu'il nous manque des données essentielles pour leur différenciation ; néanmoins, par leur vitalité et leurs caractères cultureux, il se rapprochent plus de l'entérocoque que des streptocoques.

H. Tissier classe les streptocoques des selles en trois groupes ; le groupe I se caractérise par des cultures bleutées en cocarde sur gélose lactosée tournesolée,

par l'absence de trouble en bouillon ; le lait n'est pas coagulé ; il ne pousse pas sur bile ; dans les milieux au sang, il n'y a pas d'hémolyse ; enfin la gélatine et la caséine ne sont pas attaquées. Le groupe II correspondait au *Streptococcus enteritis* d'Hirsch-Libbmann ; il trouble le bouillon, ne coagule pas le lait et ne pousse pas en bile ; il n'est ni hémolytique ni protéolytique. Le groupe III a déjà été décrit en 1900 par Tissier et se caractérise par l'absence de trouble en bouillon, la coagulation du lait ; comme les autres il ne pousse pas sur bile et n'est ni hémolytique ni protéolytique.

Tous ces streptocoques sont inoffensifs pour l'animal ; ils attaquent tous les sucres, faiblement le lactose et pas du tout la mannite.

Sur 26 selles étudiées, nous avons isolé 24 fois un entérocoque. Toutes nos souches troublaient le bouillon bilié, et le bouillon au sang, sans provoquer d'hémolyse ; elles fermentaient rapidement l'esculine et vivaient un mois au moins sur gélose ordinaire. *Nous avons là un ensemble de résultats qui nous permettent de croire que les prétendus streptocoques des selles ne sont autres que des entérocoques qui sont, eux, constants dans l'intestin du nourrisson.*

Il est beaucoup moins classique de décrire les caractères différentiels de l'entérocoque avec les autres bacilles intestinaux. Par son grand polymorphisme, l'entérocoque peut être confondu avec le *B. acidophilus* ou le *B. exilis*, et l'erreur s'est faite fréquemment, d'autant plus facilement que les cultures sur

gélose sont presque parfois identiques ; néanmoins une recherche soigneuse des caractères spéciaux de ces bacilles permettra toujours d'éviter une telle confusion.

CHAPITRE IV

Rôle physiologique de la flore intestinale

La question du rôle physiologique de la flore intestinale, souvent posée, n'a jamais été résolue et, en fait, le problème est difficile. Nous n'envisagerons, dans ce qui va suivre, que le cas de l'enfant nourri au sein, dont la flore est constante et bien définie. En présence d'une telle flore, on est amené à se demander si ces microbes, et en particulier le *B. bifidus*, sont des saprophytes, témoins du bon équilibre physiologique de l'intestin, ou bien s'ils jouent un rôle dans la nutrition.

I. — La flore intestinale est un témoin

Nous avons vu que la flore normale des selles était susceptible de varier sous l'influence des causes les plus diverses ; ces variations se caractérisent par la

diminution ou même la disparition complète du *B. bifidus* et par la prolifération active des autres germes normaux ou anormaux. Toutes les causes de variation, que nous avons déjà énumérées, se ramènent, en définitive, à une contamination du tube digestif qui retentit, par un mécanisme encore très obscur, sur la flore normale. *Cette flore paraît bien être le témoin de l'alimentation au sein d'abord et aussi des bonnes conditions d'hygiène.*

Si la flore devient anormale sans raisons, il y a beaucoup de chances que l'on ait à faire à de troubles intestinaux passagers, et alors la flore reviendra rapidement normale, ou plus graves et l'on verra apparaître des signes cliniques. Nous savons bien que l'on a signalé des cas de diarrhée grave sans modification de la flore des selles (Guillemot et Mlle Szczawinska), mais ce sont des exceptions dont on ne doit pas tenir compte en pratique.

Il y a peut-être plus. Les travaux de Stransky ont montré que les microbes du groupe *Coli* sont beaucoup plus nombreux dans l'intestin des rats atteints de troubles graves de la croissance, que chez le rat normal. Y a-t-il quelque chose d'analogue chez le nourrisson et la flore des selles est-elle influencée par l'état général ? C'est possible. En tout cas on peut admettre qu'une flore exclusivement formée de *B. bifidus* est l'indice d'un état physiologique normal chez l'enfant au sein.

De cela découlent des conséquences pratiques. Pour se rendre compte si un enfant est réellement nourri au sein et s'il est en bon équilibre physiologique, il

suffit d'examiner ses selles. Un simple frottis sur lame, facile à pratiquer, coloré au Gram, permet avec un peu d'expérience d'avoir des renseignements sur l'uniformité de la flore et il semble que la clinique pourrait s'en servir. A cause de sa simplicité, ce procédé nous paraît devoir rendre de grands services.

II. — Rôle de la flore intestinale dans la digestion et la nutrition

Indépendamment de son rôle de témoin, la flore intestinale a-t-elle un rôle actif dans l'organisme ? Nous ne discuterons pas ici le rôle des saprophytes, question encore très imprécise, et nous resterons limités à la flore des selles de l'enfant au sein.

Nous connaissons déjà un certain nombre de faits précis : le *B. bifidus* est sans action sur les protéines et les graisses ; il n'exerce d'action que sur le lactose dont la fermentation donne des acides (acide acétique surtout et acide lactique). *Le résultat, constaté in vivo et in vitro, est l'acidification du milieu où il vit ; les selles de l'enfant au sein sont, en effet, nettement acides, et le B. bifidus, en culture, empêche les autres espèces de se développer. C'est tout ce que l'on sait actuellement sur les propriétés de ce bacille, et il est logique de ramener son rôle à cette acidification de l'intestin.*

Les conséquences de l'acidité intestinale sont d'ordre mécanique, anti-microbien et physiologique.

Le rôle mécanique de l'acidité du milieu intestinal

est admis depuis longtemps ; Distaso suppose que les plexus nerveux sous-muqueux sont constamment excités par les acides intestinaux et produisent un péristaltisme régulier qui assure la bonne évacuation de l'intestin. Cette hypothèse est logique, mais difficile à vérifier.

Le rôle anti-microbien est très net ; il assure la régulation de la flore de l'intestin. Le *B. bifidus* n'agit pas sur les autres germes par production de substances toxiques, mais simplement par formation d'acides. *Tant que le B. de Tissier prédomine, les autres espèces microbiennes ne se développent pas ; mais si le milieu intestinal devient tel que ce bacille se développe mal, les autres microbes prolifèrent activement et prennent le dessus ; rien ne s'oppose plus alors à l'invasion de l'intestin par les germes les plus divers.* C'est pourquoi certains auteurs attribuent une grande importance au rôle protecteur de la flore normale, dans l'immunité de l'enfant nourri au sein pour les gastro-entérites ; nous n'aborderons pas, bien entendu, la pathogénie des gastro-entérites ; elle est encore à peu près inconnue, malgré le gros effort des chercheurs.

Il nous reste à étudier le rôle physiologique de la flore intestinale. D'après ce que nous avons déjà dit de la digestion chez le nourrisson, il ne semble pas que les résidus digestifs soient transformés en substances assimilables par les microbes de la dernière portion du gros intestin, qui sont les mêmes que ceux des selles, Mais, en plus des protéines, des graisses et des hydrates de carbone, l'alimentation comporte aussi des substances minérales dont le mode d'assimi-

lation est encore mal connu. C'est, en particulier, le cas du calcium. *M. le Professeur Mouriquand, dont on connaît la grande compétence en la matière, pense que l'assimilation du calcium peut fort bien se faire au niveau du côlon par l'intermédiaire de la flore normale où prédomine le B. bifidus.* En effet, les troubles du métabolisme du calcium sont exceptionnels chez l'enfant nourri au sein et ne se trouvent guère que chez l'enfant nourri artificiellement, bien que le lait de femme renferme près de trois fois moins de calcium que le lait de vache. De plus, L. Brull, montre, dans son rapport sur la physiologie et la pathologie générale du calcium, au XXI^e Congrès Français de médecine (Liège 1930), que l'acidité du milieu intestinal est un des facteurs principaux d'absorption du calcium au niveau de l'intestin. Il est donc très logique d'admettre que la flore intestinale, et en particulier le B. bifidus, agent d'acidification du milieu, intervient dans l'assimilation au calcium chez l'enfant au sein. Dans les cas d'allaitement artificiel, l'intestin est beaucoup moins acide, quoique sa flore renferme des bacilles acidophiles autres que le B. bifidus ; l'assimilation du calcium se ferait mal, expliquant ainsi les troubles par défaut de calcium.



L'étude de la flore intestinale du nourrisson ne se réduit donc pas à de simples descriptions morphologiques. Quoique, dans ce domaine, les résultats soient encore bien imparfaits, l'orientation actuelle des recherches se fait vers la signification physiologique

des microbes de l'intestin ; les difficultés sont nombreuses, néanmoins cette question mérite qu'on s'y attache, car elle laisse entrevoir des conséquences pratiques qui, précisées, pourront rendre de grands services en médecine infantile.

Conclusions

I. — La flore intestinale du nourrisson allaité au sein est constituée, du quatrième jour après la naissance jusqu'au sevrage par le *B. bifidus* de Tissier ; celui-ci, constant, est accompagné d'un très petit nombre d'entérocoques et de bacilles du groupe *Coli-lactis aerogenes*.

II. — Cette flore peut se modifier qualitativement et quantitativement, sans raisons apparentes ; le plus souvent, il faut rechercher les causes de ces changements dans des écarts de régime, des fautes d'hygiène alimentaire, ou dans l'administration récente de médicaments purgatifs. Nous avons vu l'aspect de la flore se modifier pendant les périodes menstruelles de la nourrice.

III. — Dans toutes les selles d'enfants nourris exclusivement au sein, que nous avons étudiées, nous avons toujours isolé un entérocoque. Nous n'avons pas rencontré de streptocoques.

IV. — Hormis le *B. bifidus*, nous n'avons jamais trouvé d'autres bacilles gardant le Gram (*B. acidophilus* et bacilles sporulés en particulier).

V. — Le *B. bifidus* de Tissier, anaérobie strict, comprend un certain nombre de variétés sérologiquement différentes. Les classifications fondées sur les caractères morphologiques sont très arbitraires, étant donné le grand polymorphisme et la fréquence des formes d'invololution sous l'influence de la composition chimique et du p^H du milieu de culture. Nous étudions, dans ce travail, à l'aide de documents et de nos constatations, les caractères bactériologiques de ce microbe.

VI. — Son rôle physiologique est obscur. C'est avant tout un agent d'acidification du milieu intestinal, et il est vraisemblable que s'il a un rôle dans la nutrition, c'est à cette propriété qu'il le doit.

VII. — La flore intestinale de l'enfant nourri au biberon est complexe ; elle varie d'un individu à l'autre. Dans l'alimentation mixte, cette flore n'est jamais aussi simple que dans l'allaitement au sein ; elle dépend des quantités respectives de lait de vache et de lait de femme absorbées par l'enfant.

Vu :	LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
LE DOYEN,	MOURIQUAND.
JEAN LEPINE.	

Vu et permis d'imprimer

LYON, le 19 Novembre 1930.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
JOSEPH GHEUSI.

Bibliographie

ABRÉVIATIONS EMPLOYÉES. — A. f. H. : *Archiv für Hygiene* (Münich). — A. I. P. : *Annales de l'Institut Pasteur* (Paris). — A. J. D. C. : *American Journal of Disease of Children* (Chicago). — C. f. B. : *Centralblatt für Bakteriologie* (Jena). — C. R. Soc. biol. : *Comptes-rendus de la Société de biologie*. — D. M. W. : *Deutsche Medizinische Wochenschrift*. — J. A. M. A. : *Journal of the American Medical Association* (Chicago). — J. Bact. : *Journal of Bacteriology* (Baltimore). — J. E. M. : *Journal of Experimental Medicine* (New-York). — J. f. K. : *Jahrbuch für Kinderheilkunde* (Berlin). — J. I. D. : *Journal of Infectious Disease* (Chicago). — J. L. Cl. : *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* (Saint-Louis). — J. of Biol. Chem. : *Journal of Biological Chemistry* (Baltimore). — J. of H. : *Journal of Hygiene* (Londres). — J. P. B. : *The Journal of Pathology and Bacteriology* (Edimbourg). — M. f. K. : *Monatschrift für Kinderheilkunde* (Leipzig). — P. M. : *Presse Médicale*. — R. F. P. : *Revue Française de Pédiatrie*. — W. Kl. W. : *Wiener Klinischen Wochenschrift*. — Z. f. B. :

Zeitschrift für Biologie (Munich). — *Z. f. H. : Zeitschrift für Hygiene* (Leipzig). — *Z. f. K. : Zeitschrift für Kinderheilkunde* (Berlin).

ADAM (A.). — Ueber Darmbakterien. I. Züchtung der Büttersäure bazillen auf Koks. Milch. (*Z. f. K.* 1921, 29, p. 59-65).

— Ueber Darmbakterien. II. Züchtung der *B. Bifidus* auf Hämatin Nährböden. (*Z. f. K.* 1921, 29, p. 65).

— Ueber Darmbakterien. III. Ueber den Einfluss der H- ionenkonzentration des Nährbodens auf die Entwicklung des *B. bifidus* (*Z. f. K.* 1921, 29, p. 306).

— Ueber Darmbakterien. IV. Ueber das H- ionenoptimum der Köpfchenbakterien des Mekoniums. Beitrag zur Entstehung der physiologischen Darmflora. (*Z. f. K.* 1921, 30, p. 265-272).

— Ueber Darmbakterien. V. Grundlagen der Ernährungsphysiologie des *B. Bifidus* (*Z. f. K.* 1922, 31, p. 331).

— Ueber Darmbakterien. VI. Zur Biologie der Darmflora des Neugeborenen. Ernährungsphysiologie der Köpfchenbakterien (*Z. f. K.* 1922, 33, p. 308).

ADAM (A.) et KISSOF (P.). — Ueber Darmbakterien. VII. Zur Biologie der Darmflora des Säuglings. Ernährungsphysiologie des *B. Acidophilus* im Verhältniss zu dem *B. Bifidus*. (*Z. f. K.* 1922, 34, p. 207).

- Ueber Darmbakterien. VIII. Zur Biologie der Darmflora des Säuglings. Das quantitative Verhältniss von *B. Bifidus* zum *B. Acidophilus* (*Z. f. K.* 1922, 34, p. 213).
- ADAM (A.). — Ueber die Bedeutung der Eigenwasserstoffzahl (des H- inonenoptimum) der Bakterien (*C. f. B.* 1922, 87, p. 481).
- Darmflora und Darmfunktion (*J. f. K.* 1922, 99, p. 93-103).
- Zur Physiologie und Pathologie des Dünndarmes. I. der Einfluss der Reaktion auf die Peristaltik (*Z. f. K.* 1924, 38, p. 378).
- Zur Physiologie und Pathologie des Dünndarmes. II. Ueber der Reaktion auf die Zuckerdurchlässigkeit (*Z. f. K.* 1924, 38, p. 366).
- Die Entstehung des Bifidusvegetation (*J. f. K.* 1925, 110, p. 186-204).
- BAHRDT et BEIFELD. — Ueber die Wirkung der Nahrungskomponenten der Frauenmilch auf die Darmflora des Säuglings (*J. f. K.* 1910, 72, p. 71-93).
- BALNER. — Experimentelle Studien über die physiologische Bakterienflora des Darmkanal (*Z. f. B.* 1904, 45, p. 380-419).
- BASS et JONES. — Elimination of *B. Coli* from cultures by inoculation with *B. acidophilus* (*New Orleans Med, and Surg. Journal*, 1924, 75, p. 115).
- The possibility and practicability of transformation of the intestinal flora by feeding milk cultures of *B. acidophilus* (*New Orleans*

- Med. and Surg. Journal.* 1924, 76, p. 116-118).
- BASTEN. — Beiträge zur Methodik der Untersuchung der Bakterienflora des Säuglingstuhles und zur Kenntniss seiner wichtigsten Bakterientypen (*Z. f. H.* 1914, 77, p. 282).
- BELENOWSKY. — Zur Frage der Wirkung steriler Nahrung auf die Darmflora (*C. f. B.* 1907, 44, p. 322-324).
- BERTHELOT. — Recherches sur la flore intestinale (*A. I. P.*, 1924, p. 132).
- BIENSTOCK. — *B. putrificus* (*A. I. P.*, 1906, p. 407).
- BLUHDORN. — Untersuchungen über den *B. Bifidus* und den sog. *B. Acidophilus* (*J. f. K.* 1910, 72, p. 693).
- Biologischen Untersuchungen über die Darmflora des Säuglings (*M. f. K.* 1916, 13, p. 297).
- BRAILOWSKY-LOUNKEVITSCH (Mme). — Flore de la bouche normale des enfants et des adultes (*A. I. P.*, 1915, p. 379).
- BRIEDIGAM et CHANG. — A simple and practical device for isolating *B. acidophilus* from single colonies (*J. L. Cl.*, 1924, 9, p. 572-574).
- W. CATEL. — Über die Vergärung von Kuh- und Frauenmagermilch durch *B. bifidus* entstehenden Gärungssäuren (*J. f. K.*, 1925, 107, p. 377).
- CAHN. — Über die nach Gramfärbaren Bazillen des Säuglingstuhles (*C. f. B.*, 1901, 30, p. 721-726).

- CIPOLLINA. — Über das Vorhandensein der sogenannten säureliebenden Bakterien in Stühle des erwachsenen Menschen (*C. f. B.*, 1902, 32, p. 576).
- COHENDY. — Bouillon intestinal pour l'isolement et l'étude des anaérobies stricts de l'intestin (*C. R. Soc. biol.*, 1907, p. 649).
- Expériences sur la vie sans microbes (*A. I. P.*, 1912, 26, p. 106).
- R. CRUICKSHANK. — *B. bifidus*, its characters and isolation from the intestine of infants (*J. of H.*, 1925, 24, p. 241-254).
- DISTASO. — Sur les microbes acido tolérants de la flore intestinale (*C. f. B.*, 1911, 59, p. 78).
- S. DREYFUSS. — Sur la flore intestinale des enfants à alimentation mixte (*C. R. Soc. biol.*, 1925, 93, p. 1566).
- DUDGEON. — A study of the intestinal flora under normal and abnormal conditions (*J. of H.*, 1927, 25, p. 119-141).
- ESCHERICH. — Zur Kenntniss der Unterschiede Zwischen natürlicher und Künstlicher Ernährung der Säuglinge (*W. Kl. W.*, 1900, p. 1083).
- Le rôle des microbes dans les maladies gastro-intestinales des nourrissons (XIII^e Congrès Int. de Méd., Paris, 1900).
- FINKELSTEIN. — Über Säureliebende Bazillen im Säuglingsstuhl (*D. M. W.*, 1900, 22, p. 263).

FREUDENBERG et HELLER. — Was leistet die Messung des Wasserstoffionenkonzentration des Säu-
glingsstuhles für den Beurteilung der Darmgä-
rung ? (*J. f. K.*, 1921, 97, p. 251).

GUILLEMOT et SZCZAWINSKA (Mlle). — Sur quelques
cas de diarrhée chez les nourissons au sein avec
conservation du type normal de la flore fécale
(*C. R. Soc. pédiat.*, Paris, mars 1907)

HERTER. — Intestinalen Infantilismus, Vienne, 1909.

HERTER et KENDALL. — *J. of. biol. chem.*, 1908, 5,
p. 289.

— The influence of dietary altération on the type
of intestinal flora (*J. of biol. chem.*, 1909, 7,
203-236).

HULL et RETTGER. — The influence of milk and carbo-
hydrate feeding on the intestinal flora (*J.*
Bact., 1917, 2, 47-71).

G. JACOBSON. — Flore normale du nourrisson (*A. I. P.*,
1908, 302).

— Modification de la flore intestinale du jeune
chien alimenté avec du lait de femme (*C. R. Soc.*
biol., 1909, 97, p. 143-145).

JEANNIN. — Flore microbienne de la bouche du nourris-
son (*Soc. obst. de France*, 1904).

JÖTTEN. — Vergleiche Zwischen dem Vaginalbazillen
Döderleini und dem *B. acidophilus* (*A. f. H.*,
1922, 91, p. 143).

JUNGANO et DISTASO. — Les anaérobies (Masson, édit.,
Paris, 1910).

KENDALL et HAUER. — *B. bifidus* ; studies in bactéri-
al metabolism (*J. I. D.*, 1924, 35, 77-78).

- B. acidophilus ; studies in bactériat metabolism (*J. I. D.*, 1924, 35, p. 89).
- KENDALL, DAY et WALKER. — Chemistry of the intestinal flora of nurshing ; studies in bacterial metabolism (*J. I. D.*, 1926, 38, p. 200-204)
- Chemistry of the intestinal bacteric of artificielle fed infants ; studies in bacterial metabolism (*J. I. D.*, 1926, 38, p. 205-210).
- KLEINSCHMIDT. — Studien über die Anaerobien des Sauglingsdarm (*J. f. K.*, 1925, 9, 127-141).
- KLING. — Rôle physiologique du B. bifidus dans le canal intestinal (*A. I. P.*, 1914, p. 797-806)
- KOPELOFF et BEERMAN. — The influence of B. acidophilus on the colon aerogenes group in the intestine (*J. L. Cl.*, 1926, 11, p. 1143-1148).
- KULP. — Viability of B. acidophilus and B. bulgaricus in the human intestine (*J. A. M. A.*, 1926, 37, p. 833-835).
- KUTHE. — Über Bakterien im Kälberdarm (*C. f. B.*, 1915, 76, p. 409-434).
- LAUTER. — Über das Vorkommen des B. bifidus beim Neugeborenen (*C. f. B.*, 1921, 86, 579-582).
- LOGAN. — The intestinal flora of infants and Young children (*J. P. B.*, 1914, 18, p. 527-551).
- LOTTI. — Qualche considerazione sulla flora intestinale (*Riv. crit. de cl. med.*, 1908).
- MERESCHOWSKY. — Zur Frage über die Rolle der Mikro organismen im Darmkanal (*C. f. B.*, 1904, 39, p. 380, 584, 696).
- METSCHINKOFF. — Etudes sur la flore intestinale (*A. I. P.*, 1908, p. 929 ; 1910, p. 755 ; 1914, p. 89).

- Essais optimistes (Paris, 1914).
- MINNI. — Sulla inapplicabilita del metodo di Büchner sogka per la coltivazione del *B. bifido* (*Rif. med.*, 1916, p. 1356).
- MORRIS, PORTER et MEYER. — The bacteriologic analyse of the fécal flora of children (*J. I. D.*, 1919, 25, p. 349-377).
- E. MORO. — Über die nach Gramfärbbaren Bazillen des Säuglingsstuhles (*W. K. W.*, 1900, 13, p. 14-115).
- Über die *B. acidophilus* (*J. f. K.*, 1900, 52, p. 38-55).
- Morphologischen und biologischen Untersuchungen über die Darmbakterien des Säuglings (*J. f. K.*, 1905, 61, p. 687-734 et p. 870-899).
- NAUJOCKS. — Das Vorkommen des *B. acidophilus* bei den Schwangeren und Gebärenden (*C. f. B.*, 1921, 86, p. 582-585).
- NOBÉCOURT et RIVET. — Les états bactériens de féèces des nourrissons à l'état normal et dans les affections gastro-intestinales (*Sem. Med.*, 30 oct. 1907).
- NOGUCHI. — Pleomorphism and pleobiosis of the *B. bifidus* (*J. E. M.*, 1910, p. 182-195).
- OZAKI. — Zur Kenntniss der anaerober Bakterien des Mundhöhle (*C. f. B.*, 1912, 62, p. 76 ; 1915, 76, p. 118 et p. 969).
- PASSINI. — Über granulosebildende Darmbakterien (*W. K. W.*, 1902).

- Über das regelmässig Vorkommen der verschiedenen Typen der strenganaerobischen Buttersäurebakterien in normalen Stühle (*J. f. K.*, 1903, 57, p. 87-9).
- RACH et REUSS. — Sur l'étiologie des cystites chez le nourrisson (*B. bifidus* et *B. paracoli*) (*C. f. B.*, 1909, 50, p. 169-178).
- RETTGER. — The influence of milk feeding on mortality and growth and the character of the intestinal flora (*J. E. M.*, 1915, 21, p. 365-388).
- RODELLA. — Über die sogenannten säureliebenden Bazillen im Säuglingsstühlen (*C. f. B.*, 1901, 29, p. 717-724).
- Über anaerober Bakterien im normalen Säuglingsstühlen (*Z. f. H.*, 1902, 39, p. 201-216).
- Beiträge zur Frage der Bedeutung anaerober Bakterien bei Darmkrankheiten (*C. f. B.*, 1903, 24, p. 14).
- Répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson (*A. I. P.*, 1905, p. 404).
- Magencarcinom und Milchsäurebazillen (*C. f. B.*, 1908, 47, p. 445-466).
- H. ROGER. — Quelques considérations sur les bactéries de l'intestin (*P. M.*, 1913, 21, p. 917).
- RUHLE. — Über eine neue Züchtungsmethode des *B. bifidus* und *B. acidophilus* beim anaeroben Oberflächenwachtung (*J. f. K.*, 1924, 106).
- SCHLIRF. — Contribution à l'étude des bactéries acidophiles (*C. f. B.*, 1925, 97, p. 104-117).
- SCHLUSSER. — Die Köpfchenbakterien des Mekoniums (*J. f. K.*, 1924, p. 34).

- SISSON. — Experimental studies of the intestinal flora (*A. J. D. C.*, 1917, 13, p. 117-127).
- SITTLER. — Beiträge zur Bakteriologie des Säuglingsdarms (*C. f. B.*, 1908, 47, p. 14-30 et p. 145-169).
- Die wichtigsten Bakterientypen der Darmflora des Säuglings. Ed. Stubers, Würzburg, 1909 (*Ref. in C. f. B.*, 1910, 45, p. 138-140).
- E. STRANSKY. — Experimentelle Beiträge zur Bakterienbesiedelung des Darmtraktes... (*M. f. K.* 1924, 27, p. 388-391).
- E. STRANSKY et A. TRIAS. — Experimentelle Untersuchungen über Darmbakterien (*M. f. K.*, 1926, 31, p. 451-546) et Abhandlungen für Kinderheilkunde n° 10, Berlin 1926, S. Karger, édit.
- E. STRANSKY et H. MASLOWSKI. — Weitere Untersuchungen über Darmbakterien; ein Beitrag zur Biologie des *B. bifidus* (*Z. f. K.*, 1927, 43, p. 717-723).
- E. STRANSKY. — La flore intestinale du nourrisson (*R. F. P.*, avril 1928, p. 143-149).
- H. TISSIER. — Recherches sur la flore intestinale des nourrissons (état normal et pathologique). *Thèse de Paris*, 1899-1900, n° 529.
- Flore intestinale normale du nourrisson (*A. I. P.*, 1902).
- Flore normale et pathologique de l'intestin du nourrisson (*A. I. P.*, 1903).
- H. TISSIER. — Répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson (*A. I. P.*, 1905).

H. TISSIER et S. DREYFUSS. — Flore intestinale de l'enfant élevé au biberon (*C. R. Soc. biol.*, 1925, 93, p. 308-310).

— Sur les streptocoques de la flore intestinale du nourrisson au sein (*C. R. Soc. biol.*, 1925, 92, p. 476).

TORREY. — New differential plating for *B. bifidus* and *B. acidophilus* (*J. I. D.*, 1917, 2, p. 434-439).

A. TRIAS. — Experimentelle Untersuchungen über Darmhakterien (*M. f. K.*, 1926, 31, p. 457-459).

— Flore intestinale du nourrisson. Premier Congrès général de l'Enfant, Genève 1925, document n° 27.

WEISS. — Zur Kenntniss der Darmflora (*C. f. B.*, 1904, 36, p. 13-18).

WEINBERG et GUNSBURG. — Données récentes sur les microbes anaérobies. Masson, Ed., Paris 1927.

ZEISSLER et KAECKELL. — Zur Bakteriologie des Säuglingsstuhles (*J. f. K.*, 1922, 49, p. 300-320).

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	9
CHAPITRE PREMIER. — <i>Historique</i>	11
CHAPITRE II. — <i>Aspect microscopique des selles de nourrissons</i>	23
CHAPITRE III. — <i>Description des principales espè- ces microbiennes des selles du nourrisson</i> ..	31
<i>Bacillus bifidis communis</i>	35
<i>Bacillus acidophilus</i>	43
L'Entérocoque	52
CHAPITRE IV. — <i>Rôle physiologique de la flore intestinale</i>	59
CONCLUSIONS	65
BIBLIOGRAPHIE	67



IMP. BOSC FRÈRES & RIOU

42, QUAI GAILLETON ,

* r o o LYON o o e s *



